

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591477

研究課題名（和文）IAP ファミリーを標的とした新規大腸癌治療法の開発

研究課題名（英文）Developing a novel treatment for colorectal cancer by targeting IAP family

研究代表者

木内 誠（KINOUCHI MAKOTO）

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：90422146

研究成果の概要（和文）：我々は、大腸癌における 5-fluorouracil (5-FU) 耐性遺伝子である cIAP2 の発現抑制により、5-FU 暴露時に caspase 3/7 の活性化を介してアポトーシスが誘導されることを明らかにした。さらに、ヒト大腸癌皮下移植マウスモデルを用い、5-FU 製剤である S-1 の投与方法（連日 vs 隔日）の違いによる抗腫瘍効果を検討した結果、隔日投与群で抗腫瘍効果が高いことが明らかとした。隔日投与群の癌細胞では cIAP2 の発現が抑制され、アポトーシスに陥る傾向にあることが示唆された。

研究成果の概要（英文）： We previously showed that the down-regulation of cIAP2, which is the gene related to 5-FU resistant, enhanced the activation of caspase 3/7 and apoptosis under exposure to 5-FU. Furthermore, we investigated the antitumor effect on the difference of mode of administration between alternate-day and daily treatment of fluoropyrimidine agent S-1 by using the xenograft mouse models of colorectal cancer. As a result, alternate-day administration group demonstrated more antitumor effect compared to daily administration group. The expression of cIAP2 in alternate-day administration group was immunohistochemically inhibited compared to that in daily administration group, suggesting that the tumors of alternate-day administration group might efficiently induce apoptosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：(1) 小腸大腸肛門外科学 (2) IAP ファミリー (3) 癌治療 (4) アポトーシス (5) 大腸癌

1. 研究開始当初の背景

私たちはこれまで、大腸癌細胞において cIAP2 を siRNA により発現抑制することで、5-FU の感

受性を高められることを報告した (Cancer Sci. 2009 May;100(5):903-913)

2. 研究の目的

IAP (inhibitor of apoptosis protein) familyの大腸癌における発現と臨床病理学的因子との関連を解析することで、大腸癌に対する新規治療法を開発し、大腸癌の治療成績向上を目指す。

3. 研究の方法

外科切除標本におけるIAP familyの発現をmRNA/タンパク質レベルで検討し、その発現意義と種々の臨床病理学的因子との関連を明らかにする。また、大腸癌細胞株を用いてIAP familyの発現抑制・強制発現後にin vitro, in vivo実験を行うことで、IAP familyを標的とした治療法の可否を明らかにする。

4. 研究成果

(1) ホルマリン固定標本を用いたタンパク質発現・アポトーシス解析： 大腸癌外科切除標本のホルマリン固定標本を用いて、cIAP2、XIAP、cIAP1などについて免疫組織化学的に解析を行った。同一症例内の癌部と非癌部の染色様式に一定の法則を見出していないが、癌部では非癌部よりも染色の強い傾向は明らかで、また進行癌においてcIAP2、XIAPともに染色の強い結果が得られている。また各症例において、先に行ったmRNAレベルの発現量とは相関があることが判明した。

(2) IAPファミリーの発現抑制による5-FUを含めた抗がん剤感受性の変化の検討： 私たちはこれまで、大腸癌細胞においてcIAP2をsiRNAにより発現抑制することで、5-FUの感受性を高められることを報告した(Cancer Sci. 2009 May;100(5):903-13)。また研究代表者らは2010年に、5-FUを含むフッ化ピリミジン製剤が胃癌・大腸癌の中心的役割を担っていることを総説した(Kinouchi M, ほか Cancers (ISSN: 2072-6694), Special Issue: Cell Death and Cancer; MDPI Publishing 2010 Vol. 2, 1717-1730)。以上の結果を第111回日本外科学会で発表した(IAPファミリーおよび5-FU感受性の制御による大腸癌の治療戦略と個別化治療への応用について、

木内 誠, 矢崎伸樹, 2011.05)。

(3) さらに、私たちのグループは、フッ化ピリミジン製剤の中でも特にS-1に着目し、投与スケジュールにおける抗腫瘍効果の変化、副作用発現の有無について検討を行った。(Expert Opin Drug Deliv. 2012 Mar;9(3):273-86.)。また、ヒト大腸癌皮下移植マウスモデルにおけるS-1投与方法の検討を行った。S-1は通常連日投与されるが隔日投与は、抗腫瘍効果を保ちながら、副作用発現を抑制することが報告されている。この実験で、連日投与と隔日投与を比較したところ、隔日投与で抗腫瘍効果が高いことが明らかとなり、その原因のひとつとして隔日投与ではアポトーシスに陥る癌細胞が多く、cIAPの発現が抑制される傾向にあることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計19件、主なものを記載)

1) Shibata C, Kakyō M, Kinouchi M, Tanaka N, Miura K, Naitoh T, Ogawa H, Motoi F, Egawa S, Ueno T, Naito H, Unno M. Criteria for the glucagon provocative test in the diagnosis of gastrinoma. Surg Today. doi:10.1007/s00595-012-0334-2 (査読有) 2012. (in press)

2) Kinouchi M, Miura K, Mizoi T, Ishida K, Fujibuchi W, Sasaki H, Ohnuma S, Saito K, Katayose Y, Naitoh T, Motoi F, Shiiba KI, Egawa S, Shibata C, Unno M. Infiltration of CD40-Positive Tumor-Associated Macrophages Indicates a Favorable Prognosis in Colorectal Cancer Patients. Hepatogastroenterology. doi:10.5754/hge12372. (査読有) 2012. (in press)

3) Shibata C, Saijō F, Kakyō M, Kinouchi M, Tanaka N, Sasaki I, Aikou T; Society for the Study of Postoperative Morbidity After Gastrectomy. Current status of pylorus-preserving gastrectomy for the

treatment of gastric cancer: a questionnaire survey and review of literatures. World J Surg. doi: 10.1007/s00268-012-1491-6. (査読有) 2012;36(4):858-863.

4) 矢崎 伸樹, 内藤 剛, 三浦 康, 小川 仁, 木内 誠, 田中直樹, 大沼 忍, 山村明寛, 柴田 近, 佐々木 巖. 甲状腺未分化癌小腸転移により腸重積症を来した1例. 日本消化器外科学会雑誌. (査読有) 44(11):1426-1433(2011. 11)

5) 矢崎伸樹, 三浦 康, 木内 誠, 田中直樹, 柴田 近, 佐々木巖. 子宮頸癌放射線治療後に発生した直腸癌の1例. 外科. (査読有). 73(8)900-903(2011. 08)

6) 矢崎伸樹, 三浦 康, 小川 仁, 木内 誠, 安藤敏典, 田中直樹, 羽根田祥, 渡辺和宏, 柴田 近, 佐々木巖. 広範な臀部膿瘍をともなった肛門管癌の1例. 日本大腸肛門病学会雑誌. (査読有);64(8):505-509(2011. 08)

7) 渡辺 和宏, 小川 仁, 三浦 康, 内藤 剛, 鹿郷 昌之, 木内 誠, 矢崎 伸樹, 羽根田 祥, 田中 直樹, 大沼 忍, 柴田 近, 佐々木 巖
【消化器手術における抗菌薬の適正使用】 周術期における抗菌薬の適正使用 炎症性腸疾患. 外科(査読有). 73(6): 591-595(2011. 06)

8) 木内 誠, 柴田 近, 佐々木 巖. 食道・胃疾患 食道・胃術後障害(総説) 消化器外科学レビュー. (査読有). 29-34(2011. 05)

9) Kinouchi M, Miura K, Mizoi T, Ishida K, Fujibuchi W, Ando T, Yazaki N, Saito K, Shiiba K, Sasaki I. Infiltration of

CD14-positive macrophages at the invasive front indicates a favorable prognosis in colorectal cancer patients with lymph node metastasis. Hepatogastroenterology. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21661395> (査読有). 2011;58(106):352-358.

10) Sato M, Shibata C, Kikuchi D, Ikezawa F, Imoto H, Kakyo M, Kinouchi M, Tanaka N, Miura K, Naitoh T, Ogawa H, Sasaki I. Effect of viscosity of enteral nutrient on gut motility and hormone secretion in dogs. Hepatogastroenterology. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21510283> (査読有). 2011;58(105):36-41.

11) 木内 誠, 笠間和典, 関 洋介, 根岸由香, 梅澤昭子, 黒川良望: 重症肥満患者に対する減量手術前後の生体インピーダンス法による体組成計測. 外科と代謝・栄養(査読有); 44 (5): 247-254 (2010)

12) Miura K, Kinouchi M, Ishida K, Fujibuchi W, Naitoh T, Ogawa H, Ando T, Yazaki N, Watanabe K, Haneda S, Shibata C and Sasaki I. 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs. Cancers. doi:10.3390/cancers2031717 (査読有). 2010, 2(3), 1717-1730

13) Sato M, Ogawa H, Shibata C, Miura K, Ando T, Saijo F, Haneda S, Kakyo M, Kinouchi M, Fukushima K, Funayama Y, Takahashi K, Sasaki I. A case of anal cancer with rapidly rising CEA in longstanding perianal Crohn disease after infliximab administration. Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi. (査読有). 2010, 107(6):885-892.

14) Hayashi K, Shibata C, Nagao M, Sato M, Kakyo M, Kinouchi M, Saijo F, Miura K, Ogawa

H, Sasaki I. Intracolonic capsaicin stimulates colonic motility and defecation in conscious dogs. *Surgery*. doi: 10.1016/j.surg.2009.11.019. (査読有). 2010;147(6):789-797.

15) 木内 誠、笠間和典、関 洋介、根岸由香、梅澤昭子、黒川良望：重症肥満に対する腹腔鏡下袖状胃切除術の成績-体重減少と肥満関連合併症の改善について. *臨床外科* (査読有). ; 65 (5) : 715-720(2010.05)

16) 木内 誠、柴田 近、鹿郷昌之、内藤 剛、田中直樹、佐々木巖. *メタボリックサージェリー*. *臨床外科* (査読有). ; 65 (5) : 674-682 (2010)

17) 木内 誠、柴田 近、鹿郷昌之、西條文人、佐々木巖：腹腔鏡下に切除した後腹膜平滑筋腫の1例. *日本内視鏡学会雑誌* (査読有); 15 (3) : 321-326(2010.03)

〔学会発表〕 (計 43 件、主なものを記載)

1) 木内 誠、柴田 近、田中直樹、鹿郷昌之、工藤克昌、三浦 康、佐々木 弘之、羽根田祥、渡辺和宏、大沼 忍、内藤 剛、小川 仁、佐々木巖. 進行再発胃癌における分割投与 Docetaxel+S1併用療法の第1相試験. 第112回日本外科学会 (2012.04.13 千葉)

2) 木内 誠、内藤 剛、鹿郷昌之、森川孝則、渡辺 和宏、田中直樹、工藤克昌、柴田 近、佐々木巖. 当科における腹腔鏡補助下胃切除術の術後合併症の検討. 第24回日本内視鏡外科学会 (2011.12.06 横浜)

3) 木内 誠、柴田 近、鹿郷 昌之、田中直樹、三浦 康、羽根田祥、渡辺和宏、小川 仁、内藤 剛、佐々木巖. 当科におけるAFP産生胃癌の検討. 第66回日本消化器外科学会総会 (2011.07.13 名古屋)

4) 三浦 康、藤渕 航、大沼 忍、唐澤秀明、木内 誠、内藤 剛、小川 仁、矢崎伸樹、柴田 近、佐々木巖. 消化器癌に対する分子生物学の臨床応用 (肝胆膵・上部消化管) 胃

癌・大腸癌における選択的 pre-mRNA スプライシングの異常の解明とその臨床応用. 第 66 回日本消化器外科学会総会 (2011.07.13 名古屋)

5) 三浦 康、唐澤秀明、大沼 忍、佐々木宏之、内藤 剛、小川 仁、木内 誠、安藤敏典、矢崎伸樹、渡辺和宏、羽根田祥、山村明寛、佐瀬友彦、柴田 近、佐々木巖. IAP ファミリーおよび 5-FU 感受性の制御による大腸癌の治療戦略と個別化治療への応用. 第 111 回日本外科学会 (2011.05.26 東京)

6) 木内 誠、三浦 康ら、大腸癌組織における腫瘍関連マクロファージの表面抗原解析と予後の検討. 第 32 回癌免疫外科研究会 (2011.5.20 和歌山)

7) 木内 誠、鹿郷昌之、内藤 剛、森川孝則、渡辺和宏、田中直樹、矢崎伸樹、大沼 忍、三浦 康、小川 仁、柴田 近、佐々木 巖. 当科における腹腔鏡補助下胃切除術の治療成績 特に術後病理診断で適応から外れた症例の検討. 第 97 回日本消化器病学会 (2011.05.13 東京)

8) 羽根田祥、小川 仁、三浦 康、内藤 剛、鹿郷昌之、木内 誠、森川孝則、矢崎伸樹、渡辺和宏、田中直樹、大沼 忍、西條文人、高橋賢一、舟山裕士、柴田 近、佐々木巖. Infliximab 投与後に肛門管/痔瘻癌を発生したクローン病症例の 5 例. 第 97 回日本消化器病学会 (2011.05.13 東京)

9) 木内 誠、鹿郷昌之、内藤 剛、安藤敏典、森川孝則、田中直樹、三浦 康、矢崎伸樹、渡辺和宏、佐藤 学、小川 仁、柴田 近、佐々木巖. 当科における腹腔鏡補助下胃切除術の治療成績. 第 83 回日本胃癌学会総会 (2011.03.03 青森)

10) 田中直樹、柴田 近、鹿郷昌之、木内 誠、飯島克典、三浦 康、内藤 剛、小川 仁、安藤敏典、矢崎伸樹、羽根田祥、渡辺和宏、佐々木巖. 14 年の長期経過観察中に進行胃癌を発症した胃ポリポース症の一例. 第 83 回日本胃癌学会総会 (2011.03.03 青森)

11) 山村明寛、堀井 明、三浦 康、唐澤秀明、阿部佳子、内藤 剛、小川 仁、木内 誠、矢崎伸樹、羽根田 祥、渡辺 和宏、大沼 忍、佐瀬友彦、鈴木秀幸、斉木由利子、福重 真一、柴田 近、佐々木巖. 大腸癌における新規癌抑制遺伝子 NDRG2 のエピジェネティックな発癌制御機構. 第 74 回大腸癌研究会 (2011.1.21 福岡)

12) 矢崎伸樹, 三浦 康, 内藤 剛, 小川 仁, 安藤敏典, 羽根田祥, 渡辺和宏, 鹿郷昌之, 木内 誠, 田中直樹, 佐藤 学, 山村明寛, 佐瀬友彦, 木村俊一, 柴田 近, 佐々木巖. 内肛門括約筋切除術への取り組み. 第 65 回日本大腸肛門病学会(2010. 11. 26 浜松)

13) 佐瀬友彦, 三浦 康, 石田和之, 藤島忠喜, 内藤 剛, 小川 仁, 木内 誠, 安藤敏典, 矢崎伸樹, 田中直樹, 柴田 近, 佐々木巖. 大腸癌リンパ節転移の個数と予後評価、規約上 Staging に関与しない脈管侵襲と予後との関係. 第 65 回日本大腸肛門病学会(2010. 11. 26 浜松)

14) 山村明寛, 三浦 康, 小川 仁, 木内 誠, 安藤敏典, 矢崎伸樹, 羽根田祥, 田中直樹, 唐澤秀明, 佐瀬友彦, 鈴木秀幸, 木村俊一, 柴田 近, 石田和之, 佐々木巖. 隣接臓器直接浸潤大腸癌の臨床病理学的位置づけに関する検討. 第 65 回日本大腸肛門病学会(2010. 11. 26 浜松)

15) 木内 誠, 鹿郷昌之, 内藤 剛, 安藤敏典, 森川孝則, 田中直樹, 三浦 康, 矢崎伸樹, 渡辺和宏, 佐藤 学, 小川 仁, 柴田 近, 佐々木巖. 当科における腹腔鏡補助下胃切除術の治療成績. 第 72 回日本臨床外科学会(2010. 11. 21 横浜)

16) 木内 誠, 三浦 康, 安藤敏典, 矢崎伸樹, 田中直樹, 鹿郷昌之, 渡辺和宏, 羽根田祥, 佐藤 学, 小川 仁, 柴田 近, 佐々木巖. 大腸癌組織における腫瘍関連マクロファージの表面抗原解析と予後の検討. 第 48 回日本癌治療学会(2010. 10. 28 京都)

17) 安藤敏典, 鹿郷昌之, 木内 誠, 田中直樹, 佐藤 学, 三浦 康, 小川 仁, 内藤 剛, 矢崎伸樹, 羽根田祥, 渡辺和宏, 柴田 近, 佐々木巖, 中保利通. 緩和病棟入院後栄養療法により状態改善し、手術施行し得た胃癌癌性腹膜炎の 1 例. 第 48 回日本癌治療学会(2010. 10. 28 京都)

18) 安藤敏典, 内藤 剛, 鹿郷昌之, 木内 誠, 三浦 康, 小川 仁, 矢崎伸樹, 羽根田祥, 渡辺和宏, 森川孝則, 柴田 近, 佐々木巖. 腸重積で発見された甲状腺未分化癌小腸転移の 1 例. 第 23 回日本内視鏡外科学会(2010. 10. 18 横浜)

19) 木内 誠, 鹿郷昌之, 内藤 剛, 森川孝則, 安藤敏典, 田中直樹, 三浦 康, 矢崎伸樹, 渡辺和宏, 小川 仁, 柴田 近, 佐々木巖. 当科における腹腔鏡補助下胃切除術の治

療成績 特にガイドライン適応外病変の検討. 23 回日本内視鏡外科学会(2010. 10. 18 横浜)

20) 木内 誠, 鹿郷 昌之, 内藤 剛, 森川孝則, 安藤敏典, 田中直樹, 三浦 康, 矢崎伸樹, 渡辺和宏, 小川 仁, 柴田 近, 佐々木巖. 当科における腹腔鏡補助下胃切除術の治療成績 特にガイドライン適応外病変の検討. 第 23 回日本内視鏡外科学会総会(2010. 10. 18 横浜)

21) 柴田 近, 西條文人, 内藤 剛, 鹿郷昌之, 木内 誠, 田中直樹, 安藤敏典, 森川孝則, 三浦 康, 小川 仁, 矢崎伸樹, 羽根田祥, 渡辺和宏, 生澤史江, 佐々木巖. 日本における肥満症外科治療の動向 3 回目のアンケート結果から. 第 3 回日本肥満症治療学会学術集会(2010. 09. 10 東京)

22) 山村明寛, 三浦 康, 阿部佳子, 木内 誠, 安藤敏典, 矢崎伸樹, 田中直樹, 柴田 近, 堀井 明, 佐々木巖. NDRG2 の後成的な発現抑制は胃腸部の発癌と関係がある (Epigenetic silencing of NDRG2 is involved in gastrointestinal carcinogenesis). 第 65 回日本消化器外科学会総会(2010. 07. 14 山口)

23) 佐瀬友彦, 三浦 康, 石田知之, 藤島史喜, 小川 仁, 木内 誠, 安藤敏典, 矢崎伸樹, 柴田 近, 佐々木巖. 大腸癌リンパ節転移の個数と予後評価、Staging に関与しない脈管侵襲と予後との関係. 第 65 回日本消化器外科学会総会(2010. 07. 14 山口)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木内 誠 (KINOUCHI MAKOTO)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：90422146

(2) 研究分担者

矢崎 伸樹 (YAZAKI NOBUKI)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：50547403

(3) 連携研究者

()

研究者番号：